Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 17, No. 5, Dec- Jan 2021, p. 905-918

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد ۱۷، شماره ۵، آذر- دی ۱۴۰۰، ص.۹۱۸ -۹۰۵

مقاله پژوهشی

تهیه و فرمولاسیون کره نیم‌چرب اسپرید عملگرا با میکروامولسیون‌های حاوی امگا۳

شقایق میراحسان‌پذیر[1]- مریم قراچورلو*[2]- غلامحسن اسدی[3]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۵/۲۳
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۷/۲۴

چکیده

امروزه غنی‌سازی به‌عنوان یکی از بخش‌های مهم در صنایع غذایی محسوب می‌شود. هدف از این تحقیق غنی‌سازی کره اسپرید نیم‌چرب با امگا ۳ با روش میکروامولسیون‌سازی امولسیفیکاسیون/ژلاسیون می‌باشد. میکروامولسیون‌های حاوی امگا۳ پس از تهیه و فرمولاسیون با غلظت‌های ۴۰۰، ۵۰۰، ۶۰۰ و ۷۰۰ میلی‌گرم امگا۳ از نظر سایز، اندازه ذرات، میزان به‌دام‌اندازی و میزان رهایش ارزیابی شدند. پس از آن کره پاستوریزه نیم‌چرب اسپرید با میکروامولسیون‌های امگا۳ غنی‌سازی شد و نمونه‌های کره در شرایط انجماد نگهداری شدند و آزمون‌های شاخص پراکسید، اسیدیته، حسی (طعم و مزه، عطر و بو، رنگ ظاهری و پذیرش کلی) در بازه‌های زمانی روز تولید، ماه اول، دوم، سوم و چهارم ارزیابی شدند. نتایج آزمون با روش آنالیز واریانس و در سطح ۰/۰۵ با نرم‌افزار SPSS 22 مورد ارزیابی قرار گرفت. اندازه ذرات میکروامولسیون بین ۹۵ تا ۱۱۹ نانومتر بود. میزان به‌دام‌اندازی امگا۳ بین ۶۵ تا ۷۹ درصد بود. نتایج نشان داد که شاخص پراکسید، اسیدیته و شاخص حسی تیمارهای کره طی زمان نگهداری افزایش معنی‌داری تا انتهای ماه چهارم نگهداری نشان داد. کمترین میزان تغییرات شاخص‌های حسی و فیزیکوشیمیایی در مورد تیمار کره دارای میکروامولسیون‌های با ۵۰۰ میلی‌گرم امگا ۳ مشاهده شد و بیشترین میزان تغییرات در کره پاستوریزه شاهد مشاهده شد، نهایتاً با توجه به نتایج ارزیابی شاخص‌های حسی و فیزیکوشیمیایی، تیمار کره پاستوریزه نیم‌چرب اسپرید دارای ۵۰۰ میلی‌گرم امگا۳ به‌عنوان تیمار برتر انتخاب و معرفی شد.

واژه‌های کلیدی: کره اسپرید پاستوریزه نیم‌چرب، میکروامولسیون‌های آلژینات سدیم/ پروتئین آب پنیر، امگا۳، غنی‌سازی.

مقدمه

امروزه در کشورهای توسعه یافته یعنی جایی که وابستگی ژرفی به غذاهای فرآوری شده وجود دارد، غنی‌سازی غذا نقش عمده‌ای را در تندرستی این جوامع طی ۴۰ سال گذشته ایفا نموده و سبب ریشه‌کن شدن سوء تغذیه در این کشورها شده است. در کشورهای در حال توسعه نیز غنی‌سازی به‌عنوان اقدامی برای بهبود وضعیت دریافت ریزمغذی‌ها به‌طور فزاینده‌ای در حال رخ نمایی است. هنگامی که غنی‌سازی بر طبق الگوهای موجود بنا می‌شود، نیازی به تغییر در رژیم غذایی جامعه مرسوم وجود ندارد و صحبتی از پذیرش یا عدم پذیرش به میان نمی‌آید. بنابراین در اغلب مواقع می‌توان غنی‌سازی را پیاده نموده و برای مدت طولانی ادامه داد. از این رو غنی‌سازی می‌تواند با صرفه‌ترین وسیله یا اقدام برای فائق آمدن بر سوء تغذیه نسبت به ریز مغذی‌ها تلقی شود (Rastmanesh, 2008). غنی‌سازی مواد غذایی، شیوه‌ای برای جبران کمبود ریز مغذی‌ها در جامعه است که تمام کشورهای دنیا از آن استفاده می‌کنند تا بتوانند کمبود مواد مغذی ضروری در جامعه را به حداقل رسانده یا آن را تحت کنترل درآورند؛ به عبارت بهتر، غنی‌سازی مواد غذایی یکی از ۴ استراتژی مهم در بحث کنترل و پیشگیری از کمبود ریز مغذی‌هاست. امگا۳ نوعی اسیدچرب غیراشباع است که در ساختار آن یک گروه کربوکسیل (COOH) و یک زنجیره کربنی با چندین پیوند دوگانه وجود دارد. علت نامگذاری آن، قرار گرفتن اولین باند دوگانه در بین اتم کربن‌های ۳ و ۴ در ساختمان شیمیایی مولکول آن از سمت گروه متیل انتهایی است و همین محل قرارگیری باند دوگانه باعث پیداشدن خواص بیوشیمیایی خاص در امگا۳ می‌شود. از بیست سال پیش تحقیقات زیادی درباره ارتباط بین مصرف اسیدهای چرب امگا۳ و بعضی ناراحتی‌های مغزی صورت گرفته است. همچنین آزمایشات بالینی نشان می‌دهد که کمبود امگا۳ می‌تواند زمینه ابتلا به بیماری‌هایی از جمله مشکلات خلقی و اضطراب، روان پریشی، اختلالات توجه، وسواس فکری، اختلالات شخصیت، افسردگی، زوال عقل و اوتیسم را تشدید کند. البته این تحقیقات تایید نمی‌کنند که کمبود امگا۳ تنها عامل بروز این بیماری‌هاست؛ بلکه تنها می‌توان نتیجه گرفت که این اسیدهای چرب تاثیر محافظتی در برابر اختلالات روانپزشکی به خصوص در افرادی که احتمال خطر در آنها بالاست را دارد (Umesha

۱، ۲ و ۳- به‌ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، دانشیار و استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.
(*- نویسنده مسئول: Email: Gharachorloo.m@gmail.com)
DOI: 10.22067/ifstrj.v17i5.88211

et al., 2015). مکانیسم عمل امگا۳ در پیشگیری از ابتلا به چنین بیماری‌هایی متعدد و ناشناخته است. اما می‌توان گفت که به‌عنوان مثال می‌تواند از نورون‌ها در برابر استرس اکسایشی محافظت کند. همچنین امگا۳ با بسیاری از فاکتورها و گیرنده‌های مولکولی در روند حافظه، شناخت و منطق، کنش متقابل دارد. امگا۳ نقش غیرمستقیمی بر تنظیم سروتونین دارد. این ناقل عصبی خلق و خو را کنترل می‌کند و در بروز افسردگی نقش دارد. یکی دیگر از تأثیرات امگا ۳ کاهش التهاب در بافت‌های مغز است. این در حالی است که التهاب دائمی می‌تواند موجب عدم فعالیت نورون‌ها و رشد بیماری‌های مغزی از جمله افسردگی شود (Ameli & Nouri Golkhandan, 2011). استفاده از ترکیبات اسیدچرب به‌طور مستقیم در غنی‌سازی مواد غذایی مشکلاتی مانند اتواکسیداسیون، بدطعمی، کاهش زیست فراهمی و همچنین ناپایداری در برابر نور و حرارت ایجاد می‌کند که منجر به استفاده از تکنیک‌های مختلف جهت انکپسولاسیون آن گردیده است. در سال‌های اخیر به دلیل افزایش تقاضا برای غذاهای کم‌چرب، صاحبان صنایع درصدد تولید این نوع غذاها با ظاهر و ویژگی‌های ظاهری محصولات پرچرب برآمده و فرآورده‌های جایگزین چربی را به بازار ارائه کرده‌اند. این محصولات و ترکیبات، ویژگی‌های حسی و کاربردی چربی‌ها را دارند، ولی از نظر شیمیایی در گروه چربی‌ها قرار نمی‌گیرند و انرژی کمتری نسبت به چربی‌ها دارند. این ترکیبات ممکن است دارای چند یا تمامی ویژگی‌های چربی‌ها باشند (Roller,1996). این چربی‌ها باعث ایجاد حجم و احساس طعمی مشابه چربی می‌شوند، ولی کالری کمتری تولید می‌کنند. علت کم‌کالری بودن این ترکیبات، دانسیته کالری کمتر و نیز داشتن آب زیاد می‌باشد که این آب زیاد جایگزین چربی می‌گردد. معمولاً، این ترکیبات در غذاهایی که محتوای آب بالایی دارند، مانند سس‌ها و اسپردها، استفاده می‌شود. جایگزین‌هایی که در این گروه قرار دارند، معمولاً بر پایه کربوهیدرات و پروتئین هستند که از دانه‌ها و غلات و سلولز تهیه شده و در انواع فرآورده‌های لبنی، دسرهای منجمد، سس‌های سالاد، گوشت‌های فرآوری شده، فرآورده‌های قنادی، اسپردها و آدامس کاربرد دارند؛ ولی برای استفاده در غذاهای سرخ شدنی مناسب نمی‌باشند، زیرا در حرارت‌های بالا تجزیه می‌شوند. جایگزین‌های چربی در واقع موادی‌اند که از دیر باز مورد استفاده بوده و فقط روش جدیدی برای کاربرد آن افزوده شده است. گروهی از آنها قبلاً بدون کاربرد بوده اما از ترکیبات اصلی مشتق شده‌اند و نوع سوم جایگزین‌های جدیدی هستند که مخلوطی از مواد اصلی می‌باشند مثل اولسترا. کمک به کاهش میزان چربی اشباع، کاهش مصرف انرژی برای بهبود سلامتی، افزایش دلپذیری غذا بدون افزایش میزان چربی و کاهش ایجاد چاقی، بیماری‌های خاص و مزمن از اهدافی هستند که با مصرف این جایگزین‌ها دنبال می‌شوند (Rodrigues *et al.*, 2013). میکروانکپسولاسیون فرایند به‌کارگیری یک حامل برای میکروارگانیسم حساس و ترکیبات با ناپایداری بالا و همچنین گران‌قیمت به‌منظور حفاظت از شرایط محیط خارجی است، بنابراین صدمات سلولی را کاهش می‌دهد. پلیمرهای طبیعی بر اساس مواد موجود به جهت خواص زیست تخریب‌پذیری، سازگاری با مواد غذایی و قابلیت زنده بودن سیستم‌های انتقال کنترل شده محسوب می‌شود (Doherty *et al.*, 2011). امولسیون‌ها تعلیق‌های کلوئیدی با حداقل دو مایع غیرقابل امتزاج هستند که دارای سامانه نامتعادلی هستند و به‌طور خودبه‌خودی تشکیل نمی‌شوند. ساختمان امولسیون‌ها از قطرات پراکنده یک مایع (فاز معلق یا فاز داخلی) در یک مایع دیگر (فاز پیوسته یا فاز خارجی) تشکیل شده است. امولسیون‌ها را، از روی اندازه قطرات امولسیون، به میکرو (۱۰ تا ۱۰۰ نانومتر)، مینی یا نانو (۱۰۰ تا ۱۰۰۰ نانومتر) و ماکرو (۰/۵ تا ۱۰۰ میکرومتر) تقسیم می‌کنند. امولسیون‌هایی که قطر ذرات آنها در مقیاس نانومتری و بر اساس نظر اکثر نویسندگان، حداکثر ۵۰۰ نانومتر باشد میکروامولسیون خوانده می‌شوند. در ضمن، اغلب ویژگی‌های امولسیون‌ها مانند پایداری، رئولوژی، ظاهر، رنگ و بافت آنها به اندازه قطرات امولسیون و توزیع اندازه قطرات بستگی دارد. به همین دلیل، کنترل، پیش‌بینی، اندازه‌گیری و گزارش اندازه قطرات در امولسیون‌های تهیه‌شده برای کاربردهای مختلف بسیار مهم و ضروری است (Yousefi *et al.*, 2017). اصولاً میکروامولسیون‌ها به‌واسطه اندازه ویژه، ظاهری شفاف یا نیمه‌شفاف دارند و به لحاظ توزیع اندازه قطرات از پایداری سینتیکی بالا، گرانروی کم و پایداری بالا در برابر پدیده‌های ترسیب، خامه‌ای شدن، به‌هم پیوستن و لخته شدن برخوردارند و به همین دلایل امروزه برای کاربردهای صنعتی فراوانی مورد توجه قرار گرفته‌اند. لازم به توضیح است که تکنیک‌های مختلفی برای تولید میکروامولسیون‌ها وجود دارد که هر یک از آنها باعث تولید میکروامولسیون‌هایی با ویژگی‌های متفاوت می‌شود و هر یک دارای مزایا و معایبی است (Calligaris *et al.*, 2016). امولسیون‌های روغن در آب ممکن است روشی موثر برای انتقال اسیدهای چرب امگا۳ در غذاهای عملگرا باشد (Djordjevic *et al.*, 2006). تحقیقات نشان داده است که محصولات لبنی مانند پنیر و کره سیستم‌های حامل خوبی برای افزایش سطح امگا ۳ می‌باشند (Kolanowski and Weibrodt *et al.*, 2007). در این تحقیق غنی‌سازی کره اسپرید نیم‌چرب با میکروکپسول‌های امگا۳ با هدف بررسی اثرات امگا۳ بر روی ماندگاری و خواص حسی و فیزیکوشیمیایی کره اسپرید نیم‌چرب انجام شد.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق آلژینات سدیم و هیدروکسیدسدیم از شرکت سیگما آلدریچ آلمان و همچنین پودر ایزوله آب پنیر از شرکت فونترا نیوزیلند تهیه و خریداری شد. روغن امگا۳ نیز از شرکت DSM هلند تهیه شد. شیر بدون چربی از شرکت آریا راما ،کره از شرکت شکلی و امولسیفایر از شرکت DMG دانمارک خریداری شد.

تهیه و فرمولاسیون میکروامولسیون‌های حاوی امگا۳

میکروامولسیون‌ها بر اساس روش Chen و Subirade (۲۰۰۶) با اندکی تغییر تهیه شدند. پودر ایزوله آب پنیر (WPI) در ۸٪ وزنی/حجمی آب با هم‌زدن در درجه حرارت اتاق به مدت یک ساعت خیس خورده و سپس اجازه داده شد تا دوساعت به طور کامل هیدراته شود. pH محلول حاصل با افزودن هیدروکسیدسدیم ۱ N تا pH=۸ تنظیم شد، سپس تا ۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه حرارت داده شد تا کمپلکس پروتئینی آن کاملا دناتوره شود. محلول WPI را سپس خنک نموده و در درجه حرارت اتاق به مدت ۲ ساعت نگهداری شد. محلول روغن ماهی حاوی امگا۳ با نسبت ۱۰ درصد وزنی/حجمی در ۰/۱ مول هیدروکسیدسدیم به مدت ۳۰ دقیقه هم زده شده و به صورت قطره قطره به آن اضافه شده، پودر آلژینات سدیم به میزان ۲٪ وزنی/ حجمی را قبلاً در آب مقطر حل کرده و در طول یک شب هم زده شد و به محلول حاصل اضافه شد تا محلول ۰/۴٪ وزنی/ حجمی میکروسفرهای آلژینات/پروتئین آب پنیر حاوی امگا۳ با سانتریفوژ دور ۲۲۰۰۰ rpm به مدت ۵ دقیقه (جهت تبخیر حلال و به دام‌اندازی امگا۳ باقیمانده در محلول) با روش امولسیفیکاسیون/ ژلاسیون داخلی تشکیل شود و در آخر توسط روش لیوفیلیزاسیون، میکروامولسیون‌ها به پودر تبدیل شدند (Poncelet *et al.*, 1992).

ارزیابی خصوصیات میکروامولسیون‌ها

ارزیابی سایز، شاخص پلی‌دیسپرسیتی و خصوصیات مورفولوژیکی

برای بررسی اندازه و توزیع اندازه میکروامولسیون‌ها از دستگاه زتاسایزر (Malvern Instruments, South-borough, MA، آمریکا) استفاده شد و اندازه‌گیری میکروامولسیون‌ها در زاویه ۹۰ درجه و تابش نور لیزر با طول موج ۶۵۷ نانومتر در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد صورت گرفت (Chen and Subirade, 2006). ویژگی‌های شکلی و ساختاری میکروامولسیون‌ها با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی (ESEM، Philips ،XL30) بررسی شد (Esfahani *et al.*, 2018).

ارزیابی میزان به دام‌اندازی امگا۳ توسط میکروامولسیون‌ها

برای تعیین میزان به دام‌اندازی امگا ۳ مقدار ۳۰ میلی‌گرم از میکروسفرهای خشک شده را وزن نموده و در ۲۵ میلی‌لیتر از بافر PBS (سالین فسفات بافر) با pH=۷/۴ حل نموده و تحت هم زدن شدید به مدت ۶ ساعت قرار داده شد. مخلوط حاصل در ۱۲۰۰۰ دور به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۲۳ درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ شد. غلظت امگا۳ در محلول فوقانی با استفاده از اسپکتروفتومتری طیف مرئی در طول موج ۴۴۵ نانومتر با استفاده از منحنی استاندارد شد. با استفاده از رابطه‌های ۱ و ۲ میزان موثر امگا۳ به‌دام‌اندازی شده (EE) و میزان کل امگا۳ به دام انداخته شده (LE) بدست آمد:

(۱) $EE=A/B \times 100$ (میزان موثر امگا۳ به دام‌اندازی شده)

(۲) $LE=A/C \times 100$ (میزان کل امگا۳ به دام‌انداخته)

در حالی که A میزان اسید چرب امگا۳ در میکروامولسیون‌ها (میلی‌گرم)، B مقدار کل اسیدچرب امگا۳ (میلی‌گرم)، C وزن کلی میکروامولسیون‌ها (نانوگرم) تعریف شد (Chen and Subirade, 2006).

بررسی میزان آزادسازی اسیدچرب امگا۳ از میکروامولسیون‌ها

رهایش اسیدهای چرب امگا۳ از میکروامولسیون در محیط سالین بافر فسفات در دور همزن ۱۰۰۰rpm در بازه‌های زمانی صفرم، ۳۰، ۶۰، ۹۰ و ۱۲۰ دقیقه انجام شده و نمونه حاصل را با HPLC مدل Dionex مجهز به پمپ مدل Ultimate 3000 با دو ورودی حلال، سیستم گاززدا (Degasser) مدل CS6150، ستون P5 ODS (C18) Hichrome به طول ۲۵۰ میلی‌متر و قطر داخلی ۴/۶ نانومتر که با ذراتی با ابعاد ۵ میکرومتر پر شده، آشکارساز فلورسانس RF2000 Fluorscence Dionex طول موج تهییج ۳۳۰ و طول موج نشر ۵۵۰ نانومتر و شویش گرادیانت، فاز متحرک شامل دو بخش A (بافر فسفات با pH=۷ و استونیتریل به نسبت ۱۵:۸۵) و سرعت جریان ۰/۹ میلی‌لیتر بر دقیقه روش ارتقاء پیدا کرد و معتبر شد. نانوذرات با تزریق ۲۰ میکرومتر از نمونه آماده شده، حدوداً در دقیقه ۲۴، جدا، شناسایی و تعیین مقدار شد و داده ها با نرم‌افزار Chromeleon version 6.6 جمع‌بندی شدند. براساس معادلات شکل رهایش در برابر زمان ترسیم شد که k مقدار ثابت، t زمان و Mt میزان امگا۳ آزاد شده در زمان t است. M_∞ و M0 مقادیر آزادسازی در زمان‌های صفر و t است (Chen and Subirade , 2006).

(۳) معادله درجه صفر $dM\,t/dt=k$

(۴) معادله درجه اول $dMt/dt=K(M_0-Mt)$

(۵) مدل هیگوچی $1+2F-3F^{3/2}=Kt \quad F=1-Mt/M_\infty$

تولید کره نیم‌چرب اسپرید عملگرا با میکروامولسیون‌های حاوی امگا۳

امولسیفایر به شیر بدون چربی در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد اضافه شده و مخلوط حاصل با فشار ۸۰ بار هموژن گردیده و عملیات

پاستوریزاسیون در دمای ۸۵ درجه سانتی گراد به مدت ۱۵ ثانیه انجام شد، سپس مخلوط حاصل تا دمای زیر ۱۰ درجه سانتی‌گراد خنک شده و به کره با دمای حداکثر ۶ درجه سانتی‌گراد اضافه گردید. از هر یک از میکروامولسیون‌های حاوی امگا سه با غلظت های ۴۰۰، ۵۰۰، ۶۰۰ و ۷۰۰ میلی‌گرم امگا۳ به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر ۱۰۰ گرم نمونه کره اضافه شده و تا زمان به‌دست آمدن یک مخلوط یکدست و یکنواخت مالش داده و کاملاً هم‌زده شد. پس از آن در دمای حداکثر ۱۶ درجه سانتی‌گراد محصول حاصل، بسته‌بندی گردیده و به سردخانه زیر صفر (۱۸-) درجه سانتی‌گراد منتقل شد و سپس در روز صفرم (روز تولید) و ماه‌های اول، دوم، سوم و چهارم مورد ارزیابی قرار گرفت.

ارزیابی خصوصیات فیزیکوشیمیایی کره نیم‌چرب اسپرید عملگرا با میکروامولسیون‌های حاوی امگا۳

اندازه‌گیری مقدار پراکسید به روش یدومتری- تعیین نقطه پایانی به طریق چشمی توسط استاندارد ملی به شماره ۴۱۷۹ صورت پذیرفت (Anon, 2008). اسیدیته کره به روش تیتراسیون و توسط استاندارد ملی به شماره ۴۱۷۸ تعیین شد (Anon, 2011). ویژگی‌های حسی نظیر طعم، رنگ، بو و پذیرش کلی با استفاده از ۱۵ ارزیاب آموزش دیده و براساس آزمون هدونیک ۵ امتیازی ارزیابی شدند. دراین آزمون ارزیاب ها به وسیله مشخص کردن اعداد۱ تا ۵ نظرخود را اعلام داشتند. به‌طوری که عدد ۵ به منزله عالی، عدد ۴ خیلی خوب، عدد ۳ خوب، عدد ۲ نه خوب نه بد (بی‌تفاوت) و عدد ۱ ضعیف از نظر شباهت به کره تازه می‌باشد.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

تمام نتایج با آزمون t-test و آنالیز واریانس بررسی و مقایسه شد و از نرم‌افزارSPSS 22 برای این منظور استفاده گردید.

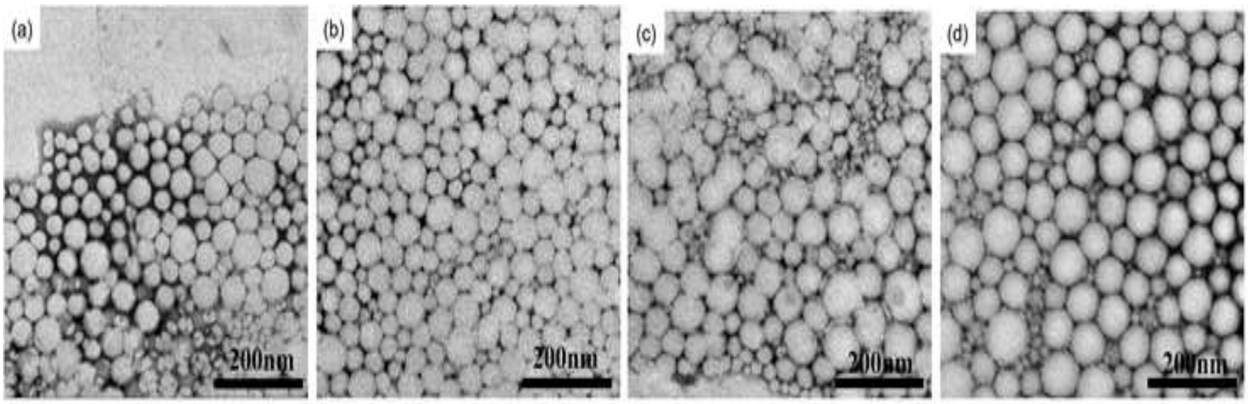
نتایج و بحث

سایز میکروامولسیون‌های حاوی امگا۳

همان‌گونه که در جدول ۱ مشاهده می‌شود دامنه سایز میکروامولسیون‌ها از محدوده ۹۵ نانومتر تا ۱۱۹/۲ نانومتر بوده و شاخص پلی‌دیسپرسیتی نیز از ۰/۳۶۰ تا ۰/۴۴۳ بین تیمارهای میکروامولسیون‌ها بوده است. به‌طور کلی با افزایش میزان استفاده از امگا۳ در فرمولاسیون تیمارهای میکروامولسیون‌ها میزان شاخص سایز و پلی‌دیسپرسیتی افزایش یافت.

جدول ۱- نتایج شاخص سایز و پلی‌دیسپرسیتی میکروامولسیون‌های حاوی امگا۳

کد تیمار	T1(400mg Omega3)	T2(500mg Omega3)	T3(600mg Omega3)	T4(700mg Omega3)
سایز (نانومتر)	۹۵/۰۲	۱۰۳/۱	۱۱۸/۳	۱۱۹/۲
شاخص پلی دیسپرستی (PDI)	۰/۳۶۰	۰/۳۹۴	۰/۳۷۸	۰/۴۴۳



شکل ۱- نتایج میکروسکوپ الکترونی تیمارهای میکروامولسیون، (a);T1, (b); T2, (c);T3, (d):T4

T1= میکروامولسیون دارای ٤٠٠ میلی‌گرم امگا۳

T2= میکرو امولسیون دارای ٥٠٠ میلی‌گرم امگا۳

T3= میکرو امولسیون دارای ٦٠٠ میلی‌گرم امگا۳

T4= میکرو امولسیون دارای ۷۰۰ میلی‌گرم امگا۳

هدف اولیه تعیین شرایطی بود که در آن میکروامولسیون‌ها اندازه مناسب و کمترین شاخص پراکندگی را داشته باشند. اندازه میکروامولسیون‌ها روی توانایی سیستم انتقال ترکیبات برای انتقال و رهایش مؤثر ترکیبات کپسوله شده حائز اهمیت است. بنابراین پایداری

میکروامولسیون‌ها می تواند با بهینه‌سازی اندازه ذرات افزایش یابد. میکروکپسول‌های امگا۳ دارای ساختار مورفولوژی هموژن بوده و دارای شکل کروی و بدون آگلومراسیون می‌باشد. شکل کروی میکروکپسول‌ها نیز به دلیل تعادل الکتروستاتیکی ایزوله پروتئین آب پنیر/ آلژینات در به دام‌اندازی امگا۳ می‌باشد که قابلیت تشکیل شبکه تخم‌مرغی را نیز دارد و با عملکرد به‌عنوان هسته می‌تواند برای به دام‌اندازی امگا۳ مورد استفاده قرار گرفته و باعث به دام‌اندازی امگا۳ شود. همان‌گونه که در نتایج جدول ۱ نیز قابل مشاهده می‌باشد با افزایش میزان استفاده از امگا۳ در فرمولاسیون نانوذرات میزان سایز نانوذرات به‌طور معنی‌داری افزایش یافت که با وزن مولکولی نانوذرات ارتباط دارد. به عبارتی افزایش وزن مولکولی ترکیبات باعث افزایش سایز نانوذرات حاصله گردید. وزن مولی مربوط به امگا۳، ۳۹۴/۵ مول برگرم بوده که با افزایش میزان استفاده از آن در فرمولاسیون میکروامولسیون‌ها جرم مولی کل به‌طور معنی‌داری افزایش می‌یابد که منجر به تولید سایز بزرگتری می‌شود. Mi و همکاران (۱۹۹۹) اثر نسبت‌های مختلف وزنی کیتوزان/ تری پلی‌فسفات را بررسی نمودند و به این نتیجه دست یافتند که در نسبت وزنی بالاتر از ۳/۷۵، نانوذرات با اندازه بزرگتری تشکیل می‌شوند. در این راستا نیز تحقیقات مشابهی وجود داشت. Subongkot & Ngawhirunpat (۲۰۱۷) یک بررسی روی میکروامولسیون جدید برای افزایش جذب دهانی رتینوئیک اسید انجام دادند و دریافتند که ارتباط مثبت و معنی‌داری بین میزان اسید رتینوئیک و اندازه ذرات میکروامولسیون‌ها وجود داشته و میکروامولسیون‌ها از مورفولوژی هموژن نیز برخوردار بودند که با یافته‌های تحقیق حاضر نیز در توافق بود.

میزان به دام‌اندازی امگا ۳ در میکروامولسیون‌ها

با توجه جدول ۲ مشاهده می‌شود که میزان موثر امگا۳ به دام‌اندازی شده در محدوده ۶۵ تا ۷۵ درصد بوده و میزان کل امگا۳ به دام انداخته شده ۷۹-۶۲ درصد می‌باشد. کمترین میزان موثر امگا ۳ به دام‌اندازی شده و میزان کل امگا۳ به تیمار T4 و بالاترین آن نیز به تیمار T2 تعلق داشت.

جدول۲- نتایج میزان موثر امگا ۳ به دام‌اندازی شده و میزان کل امگا ۳ به دام‌انداخته شده

کد تیمار	T1	T2	T3	T4
میزان موثر امگا۳ به دام‌اندازی شده (EE)	٪۷۵	٪۷۹	٪۷۳	٪۶۵
میزان کل امگا۳ به دام‌انداخته شده(LE)	٪۷۹	٪۸۲	٪۷۶	٪۶۲

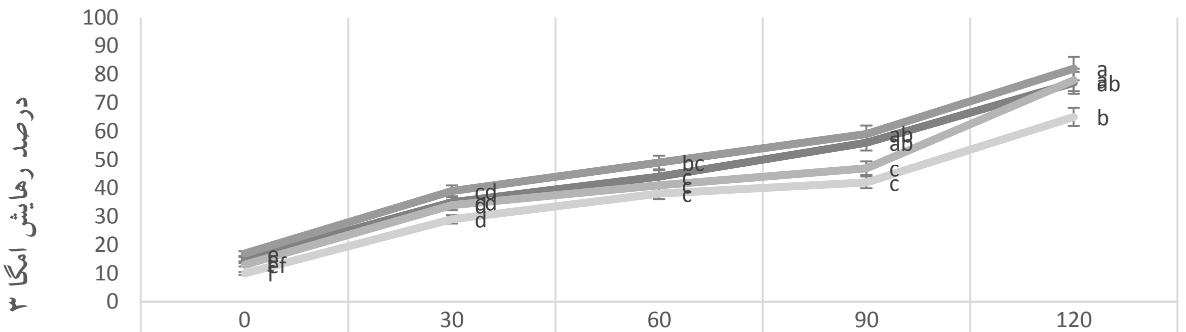
T1= میکروامولسیون دارای ٤٠٠ میلی‌گرم امگا۳
T2= میکرو امولسیون دارای ۵۰۰ میلی‌گرم امگا۳
T3= میکرو امولسیون دارای ٦٠٠ میلی‌گرم امگا۳
T4= میکرو امولسیون دارای ۷۰۰ میلی‌گرم امگا۳

با افزایش میزان امگا۳ مورد استفاده در فرمولاسیون میکروکپسول‌های آلژینات/ ایزوله پروتئین آب پنیر میزان به دام‌اندازی امگا۳ نیز به‌طور معنی‌داری افزایش یافت که به دلیل افزایش غلظت وزنی امگا۳ مورد استفاده در فرمولاسیون می‌باشد اما در مقادیر بالاتر T3 و T4 میزان کارایی به دام‌اندازی ترکیبات به طور معنی‌داری کاهش یافت. برهمکنش‌های غیرکووالانسی بین پروتئین-پلی ساکارید عامل تشکیل میکروامولسیون می‌باشد که با افزایش مقادیر اسید چرب امگا۳ در فرمولاسیون تعادل الکتروستاتیکی پروتئین آب پنیر و آلژینات بهم خورده و منجر به تشکیل شکل کاملی از میکروامولسیون نشده و میزان به دام اندازی به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. در مطالعات Penice و همکاران (۲۰۰۴) نشان داده شد که میزان کپسوله‌سازی با استفاده از نسبت‌های مختلف آلژینات- روغن بین ۴۲ تا ۹۲ درصد متغیر بوده است و در سطح ۱۵ یا ۲۰ درصد روغن (V/V) پس از ۴۸ ساعت روغن از داخل کپسول تراوش نموده که در توافق با تحقیق حاضر می‌باشد. جعفرپور و همکاران (۲۰۱۶) نیز در بررسی نانو ریزپوشانی اسیدچرب امگا۳ به‌وسیله ژلاتین ماهی و صمغ عربی با استفاده از روش کواسرواسیون دریافتند که تغییرات غلظت امگا۳ بیشترین تأثیر را در مقدار روغن کپسوله شده دارد و با افزایش مقدار اسیدچرب امگا۳ مقدار روغن بیشتری کپسوله شده است که با نتایج به‌دست آمده از این تحقیق مطابقت دارد. Ilyasoglu و Sededf Nehir (۲۰۱۴) در بررسی نانوانکپسولاسیون EPA/DHA با کمپلکس سدیم کازئینات و صمغ عربی و استفاده از آن در غنی‌سازی آبمیوه، کارایی کپسوله‌سازی را با محاسبه درصد روغن به دام افتاده شده در داخل کپسول پروتئین- پلی‌ساکارید، برای محاسبه سطح غنی‌سازی آبمیوه با نانوکپسول‌های روغن ماهی اندازه‌گیری نمودند که نتایج حاکی از کارایی کپسولاسیون به میزان ۲/۸۹ ± ۷۸/۸۸ درصد بود. Zimet و همکاران (۲۰۰۹) بـا بررسی کارایی کپسولاسـیون کمـپلکس بتـالاکتوگلوبولین- پکتین حاوی DHA این میزان را ۶۴ درصد مقدار DHA افزوده شده در نانوکپسول‌ها گزارش کردند و دریافتند که فعل

و انفعالات بین بار مثبت بتالاکتاگلوبولین با بار منفی پکتین منجر به تشکیل نانوکمپلکس‌های پایدار محلول شده است.

میزان آزادسازی اسید چرب امگا ۳ از میکروامولسیون‌ها

با توجه به شکل ۲ مشاهده می‌شود که رهایش میکروامولسیون‌ها در مراحل مختلف دارای پروفایل‌های متفاوتی بوده ولی هر کدام از سه بخش اولیه که مرحله رهایش اولیه[1]، مرحله رهایش ثابت[2] و مرحله دگرادسیون [3] یا تخریب می‌باشد تشکیل شده است. در بین تیمارهای میکروامولسیون در مرحله رهایش اولیه تیمار T2 دارای بالاترین درصد رهایش بوده و این برتری درصد آزادسازی در مقایسه با سایر تیمارهای میکروامولسیون‌ها در مراحل دوم و سوم رهایش نیز حفظ گردید. به طوری که در انتهای مرحله تخریب میزان آزادسازی امگا۳ از میکروامولسیون‌ها به میزان ۸۲ درصد ادامه داشت. تیمار T4 نیز دارای حداقل میزان آزادسازی در هر یک از سه مرحله پروفایل آزادسازی بود و تیمارهای T1 و T3 در حد واسط بین این دو قرار داشتند.



	0	30	60	90	120
T1	15	35	44	56	77
T2	17	39	49	59	82
T3	13	34	41	47	78
T4	10	29	38	42	65

شکل۲- رهایش تیمارهای میکروامولسیون حاوی امگا ۳
T1= میکروامولسیون دارای ۴۰۰ میلی‌گرم امگا۳
T2= میکرو امولسیون دارای ۵۰۰ میلی‌گرم امگا۳
T3= میکرو امولسیون دارای ۶۰۰ میلی‌گرم امگا۳
T4= میکرو امولسیون دارای ۷۰۰ میلی‌گرم امگا۳
حروف مختلف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌داری در سطح ۰/۰۵ درصد می‌باشد.

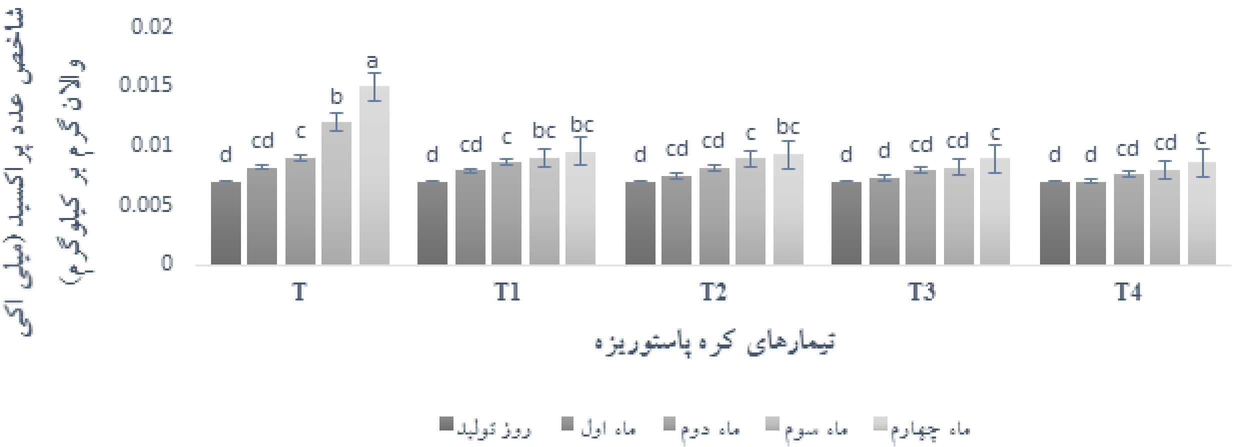
عوامل بسیاری بر میزان رهایش نانوذرات نیز موثر می‌باشد. بیشتر پلیمرهای زیست تخریب‌پذیر مورد استفاده در سیستم‌های میکروامولسیون‌ها به‌وسیله هیدرولیز، تخریب می‌شوند. هیدرولیز واکنشی میان مولکول‌های آب و پیوندهای موجود در زنجیره اصلی پلیمری است. به‌طور نمونه پیوندهای استری نمونه‌ای از این پیوندها است که با شکسته شدن متوالی آنها، زنجیره پلیمری به مونومرهای آن تبدیل می‌شود. همین‌طور که مولکول‌های آب پیوندهای شیمیایی را در طول زنجیره مولکولی می‌شکنند، پیوستگی فیزیکی پلیمر از بین می‌رود و اجازه داده می‌شود تا ترکیب به دام‌افتاده رهاسازی شود. کنتیک رهایش امگا۳ از میکروامولسیون‌ها در دو مرحله فرایند دوفازی توصیف می‌شود؛ مرحله اولیه شامل ترکیدن اولیه است که رهایش کند را در میکروامولسیون‌ها موجب می‌گردد. در غلظت‌های بالاتر امگا۳ (میزان انباشت بالای ۵۰ درصد) حدود یک ساعت زمان لازم است تا این رهایش اولیه صورت پذیرد و در انباشت‌های با درصد کمتر و حضور امگا۳ آزاد در محیط، فرایند به صورت یک مرحله‌ای در آمده است و با افزایش میزان به دام‌اندازی امگا۳ میزان به دام‌اندازی و نهایتاً میزان

1 Burst release
2 Steady state
3 Degradation

رهایش افزایش می‌یابد. یکی از عوامل موثر بر میزان رهایش میکروامولسیون‌ها سایز میکروامولسیون می‌باشد که با افزایش اندازه میکروامولسیون سطح تماس میکروامولسیون به‌طور موثری کاهش می‌یابد و می‌تواند باعث کاهش میزان آزادسازی ترکیبات به دام افتاده در درون میکروامولسیون شود. بنابراین با توجه به نتایج سایز میزان شاخص به دام‌اندازی به‌طور موثری تحت تاثیر قرار می‌گیرد به‌طوری که در دو تیمار T3 و T4 میزان به دام اندازی به‌طور معنی‌داری کمتر از تیمارهای دیگر می‌باشد. از طرفی میزان امگا۳ به دام افتاده در داخل ترکیبات میکروامولسیون تعیین‌کننده میزان درصد رهایش میکروامولسیون می‌باشد. هرچه میزان کارایی کپسولاسیون بالاتر باشد میزان امگا۳ بیشتری در درون میکروامولسیون برای رهایش وجود دارد. در این راستا برآیند این دو ترکیب بر روی کنتیک رهایش تاثیر می‌گذارد. نتایج تحقیقات Luo و همکاران (۲۰۱۱) نیز با یافته‌های تحقیق مطابقت داشت؛ بررسی‌های آنها نشان داد که رهایش آلفاتوکوفرول از نانوذرات زئین-کیتوزان با سایز کوچکتر سریع‌تر صورت می‌گیرد. مرحله دوم فرایند دوفازی رهایش به مرحله ثابت معروف است که طی آن رهایش به‌صورت تجمعی ادامه می‌یابد تا فرایند رهایش به‌طور کامل تکمیل شود. حضور امگا۳ آزاد در محیط سطحی میکروامولسیون در مقادیر بالا T3 و T4 و تجمع آن‌ها بر سطح میکروامولسیون، باعث برهم خوردن تعادل الکتروستاتیکی و گاهی حالت‌هایی شبیه به آگلومراسیون و تجمع ذرات به صورت خوشه‌ای و کاهش میزان سطح به حجم میکروامولسیون شده و میزان رهایش را به‌طور معنی‌داری کاهش می‌دهد. در این راستا نیز تحقیقات مشابهی نیز وجود داشت. Prathyusha Rao و همکاران (۲۰۱۴) در بررسی به‌دام‌اندازی بیکسین در نانوذرات چربی جامد نیز به نتایج مشابهی در رابطه با سایز نانوذرات و همچنین قابلیت رهایش و به دام‌اندازی دست یافتند. آن‌ها دریافتند که افزایش میزان سایز نانوذرات میزان درصد رهایش را به‌طور معنی‌داری کاهش داد که با نتایج تحقیق حاضر همخوانی داشت.

عدد پراکسید

با توجه به شکل ۳ مشاهده می‌شود که در روز تولید تیمارهای کره پاستوریزه، اختلاف معنی‌داری بین میزان میانگین شاخص پراکسید تیمارها وجود نداشته اما در طی بازه‌های زمان نگهداری روند افزایشی معنی‌داری مشاهده شد به‌طوری که در انتهای ماه چهارم نگهداری، میزان میانگین شاخص پراکسید هر یک از تیمارهای کره نسبت به روز تولید از افزایش چشمگیری برخوردار بود ($p\leq۰/۰۵$). بالاترین میزان تغییرات در طی چهار ماه زمان نگهداری به کره شاهد و پس از آن نیز به تیمارهای کره پاستوریزه با مقادیر ۴۰۰ و ۵۰۰ میلی گرم امگا۳ تعلق داشت($p\leq۰/۰۵$). تیمارهای T3 و T4 دارای حداقل میزان تغییرات شاخص عدد پراکسید در طی مدت چهار ماه نگهداری بودند($p\leq۰/۰۵$).



شکل۳- مقایسه میانگین شاخص پراکسید تیمارهای کره پاستوریزه

T0= تیمار کره پاستوریزه فاقد امگا۳

T1= تیمار کره پاستوریزه دارای ٤٠٠ میلی‌گرم امگا۳

T2= تیمار کره پاستوریزه دارای ۵۰۰ میلی‌گرم امگا۳

T3= تیمار کره پاستوریزه دارای ٦٠٠ میلی‌گرم امگا۳

T4= تیمار کره پاستوریزه دارای ۷۰۰ میلی گرم امگا۳

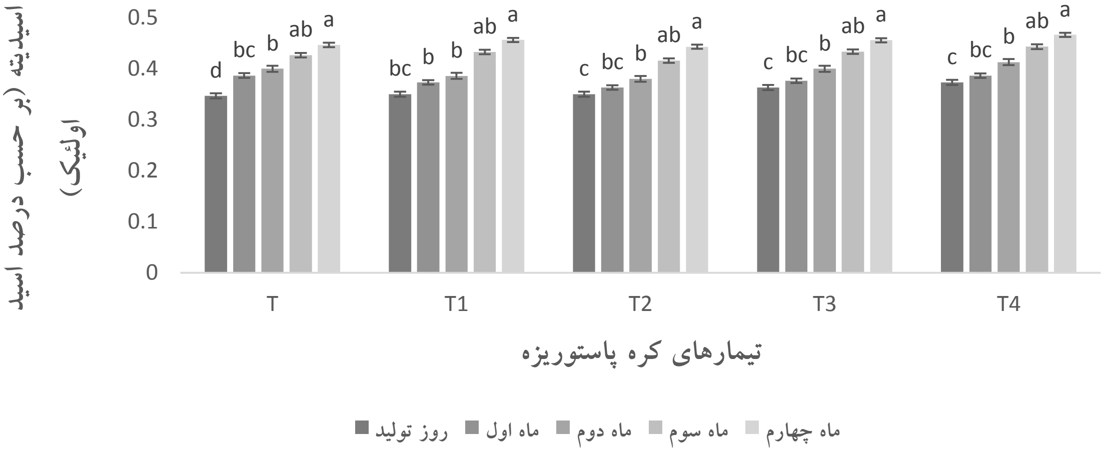
اندیس پراکسید به‌صورت میلی‌اکی والان پراکسید در ۱۰۰۰ گرم نمونه که یدید پتاسیم را تحت شرایط آزمون اکسید می‌کند بیان می‌شود و شاخصی برای اندازه‌گیری میزان اکسیداسیون چربی است. عوامل مختلفی مانند نور، یون‌های فلزی و اکسیژن قادر به بالا

بردن اندیس پراکسید مـی‌باشند. بررسی نتایج شاخص پراکسید تیمارهای کره نشان‌دهنده افزایش معنی‌دار شاخص پراکسید در کلیه تیمارهای کره طی مدت زمان نگهداری چهار ماه بود. چربی‌ها به‌عنوان ترکیبات آلی بر خلاف سایر مواد خوراکی کمتر متحمل فساد باکتریایی می‌شوند. اکثر آسیب ها هنگام فرآیند و نگهداری روغن نتیجه واکنش اکسیداسیون می‌باشد. اکسیداسیون به دو شکل آنزیمی و غیرآنزیمی رخ می‌دهد و نوع غیرآنزیمی به دو گروه اتواکسیداسیون و فتواکسیداسیون تقسیم می‌شود. ممانعت از واکنش اتواکسیداسیون به علت انرژی اکتیواسیون کم چندان ساده نیست و بر خلاف واکنش‌های آنزیمی با کاهش دما نمی‌توان از آن به راحتی جلوگیری کرد (Shahidi, 2005). از آنجا که هیدروپراکسیدها ترکیباتی بدون طعم و بو هستند، نمی‌توانند به‌وسیله مصرف‌کنندگان تشخیص داده شوند، ولی این ترکیبات باعث به وجود آمدن ترکیبات ثانویه مثل آلدئیدها و کتون‌ها می‌شوند که سبب تندشدن اکسیداسیونی می‌شود. میزان اولیه پراکسید حدود ۰/۵۴ میلی‌اکی والان گرم O_2 در کیلوگرم چربی بود که طی دوره نگهداری برای همه تیمارها افزایش یافت. این افزایش در کره شاهد شدت بیشتری داشت به‌طوری که بیشترین آن در ماه دوم نگهداری بود و پس از آن با تبدیل ترکیبات هیدروپراکسیدی به مالون آلدئید و تجزیه هیدروپراکسیدها به ترکیبات ثانویه، کاهش معنی‌داری در میزان ترکیبات هیدروپراکسیدی نیز مشاهده شد. در تیمارهای دارای میکروامولسیون‌های آلژینات سدیم/ پروتئین آب پنیر حاوی امگا۳ میزان شاخص پراکسید به میزان کمتری پایین‌تر از کره شاهد بود اما به‌طورکلی بین میزان میانگین شاخص پراکسید بین تیمارهای میکروامولسیون‌های حاوی امگا۳ اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($p≤0/05$). از دلایل مربوط به این تغییرات می‌توان به پوشش آلژینات سدیم میکروامولسیون‌ها اشاره کرد. از آن‌جایی‌که در مطالعات مختلف به اثرات آنتی‌اکسیدانی آلژینات سدیم اشاره شده است، حضور آلژینات سدیم با اثرات آنتی‌اکسیدانی و همچنین اثرات ضدمیکروبی که می‌تواند از اکسیداسیون میکروبی نیز ممانعت کرده، روند اکسیداسیون را با تاخیر مواجه نموده و میزان عدد پراکسید طی دوره نگهداری با کاهش مواجه شود. مکانیسم عمل آنتی‌اکسیدانی آلژینات سدیم را می‌توان در حضور گروه‌های هیدروکسیل آزاد و توانایی آن‌ها جهت واکنش با هیدروژن‌های رادیکال ناشی از واکنش‌های زنجیری و اتواکسیداسیون دانست و از آن جایی که درصد آلژینات سدیم مورد استفاده در فرمولاسیون میکروامولسیون‌های به‌کار رفته در فرمولاسیون تیمارهای کره به میزان ثابتی بوده است از این رو استفاده از میکروامولسیون‌های تیمارهای T1 تا T4 اختلاف معنی‌داری را از نظر میانگین شاخص پراکسید بین تیمارهای کره ایجاد نکرد ($p≤0/05$). همچنین در مطالعات Hamzeh و Rezaei (۲۰۱۱) اثرات ضداکسیداسیونی و ضدباکتریایی پوشش آلژینات سدیم به همراه اسانس آویشن بر فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان نگهداری شده در یخچال نیز اشاره شده است که وجود آلژینات سدیم می‌تواند به‌عنوان ترکیب آنتی‌اکسیدان نقش موثری درکاهش شاخص پراکسید داشته باشد که با یافته‌های تحقیق حاضر نیز در توافق بود. همچنین Namikhasmakhi و همکاران (۲۰۱۶) در بررسی اثرات ضداکسیداسیونی پوشش خوراکی آلژینات سدیم به همراه ویتامین C نشان داد که استفاده از آلژینات سدیم اثرات ضداکسیداسیونی داشته که با یافته‌های تحقیق حاضر نیز در توافق بود. در مطالعات Taccone-Gallucci و همکاران (۲۰۰۶) نشان داده شده است که امگا ۳ از طریق جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدی ممکن است اثرات ضد اکسایشی داشته باشد. Bahramizadeh و Rahmani Farah (۲۰۱۹) روش‌های مختلف غنی‌سازی برگر ماهی با روغن امگا–۳ ماهی ریزپوشانی شده به‌همراه عصاره‌های دارچین و رزماری را بر کیفیت و مدت ماندگاری آن بررسی نمودند و به کاهش میزان اکسیداسیون لیپیدی در تیمارهای ماهی ریزپوشانی شده اشاره نمودند که همراستا با تحقیق حاضر بود.

اسیدیته

با توجه به شکل۴ اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای کره پاستوریزه وجود داشت ($p≤0/05$). طی زمان نگهداری تا انتهای ماه چهارم میزان اسیدیته تیمارهای کره پاستوریزه به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ($p≤0/05$). میزان شاخص اسیدیته در بین تیمارهای کره پاستوریزه با میزان ۶۰۰ و ۷۰۰ میلی‌گرم امگا۳ نیز بالاتر از تیمارهای کره پاستوریزه با مقادیر ۴۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم امگا۳ مشاهده شد ($p≤0/05$). کره پاستوریزه شاهد نیز روند افزایشی معنی‌داری را طی دوره نگهداری تا انتهای ماه چهارم نشان داد و به بالاترین میزان خود در انتهای مدت زمان نگهداری رسید ($p≤0/05$). بررسی نتایج ارزیابی اسیدیته تیمارهای کره نشان داد که طی زمان نگهداری چهارماه میزان شاخص اسیدیته افزایش معنی‌داری نشان داد ($p≤0/05$). افزایش اسیدیته می‌تواند به دلیل تندشدن هیدرولیتیک در تیمارهای کره طی زمان نگهداری باشد. همچنین طی زمان نگهداری به جهت افزایش میزان درصد رطوبت ماتریکس کره ناشی از تبادلات محیطی و همچنین به جهت افزایش میزان فعالیت آنزیم لیپاز و آزاد شدن اسید بوتیریک کره اسیدیته افزایش یافت. با توجه به این مساله که آلژینات سدیم خاصیت جذب رطوبت داشته و می‌تواند از افزایش رطوبت آزاد در ماتریکس کره و همچنین افزایش میزان فعالیت آنزیم لیپاز تا حدودی جلوگیری نماید، روند افزایشی اسیدیته در تیمارهای حاوی میکروامولسیون‌ها از میزان تغییرات اسیدیته در کره شاهد فاقد میکروامولسیون‌ها کمتر بود و از این رو با توجه به ثابت بودن نسبت آلژینات سدیم در فرمولاسیون تیمارهای میکروامولسیون‌ها اختلاف معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشده و امگا ۳ موجود در فرمولاسیون تیمارهای کره تاثیر معنی‌داری بر شاخص اسیدیته تیمارهای کره نشان نداد. در این راستا تحقیقات مشابهی نیز وجود داشت. (Keramatjou *et al.*, 2013) در بررسی اثر

آنتی‌اکسیدانی عصاره برگ زیتون در پایداری کره دریافتند که طی زمان نگهداری میزان اسیدیته تیمارهای کره به‌طور معنی‌داری افزایش می یابد که با اکسیداسیون لیپولتیک تیمارهای کره در ارتباط است. نتایج تحقیق با یافته‌های تحقیق حاضر نیز در توافق بود. (Ariafar & Zandi, 2007) نیز در تحقیقات خود با استفاده از تولید کره کم کلسترول با استفاده از بتاسیکلودکسترین به نتایج مشابهی دست یافتند. آن‌ها دریافتند که با افزایش درصد استفاده از بتاسیکلودکسترین در فرمولاسیون کره و افزایش آب در دسترس و افزایش اکسیداسیون هیدرولتیکی میزان اسیدیته تیمارهای کره پاستوریزه به‌طور معنی‌داری افزایش می‌یابد که با نتایج تحقیق حاضر نیز مطابقت داشت.



شکل٤- مقایسه میانگین شاخص اسیدیته تیمارهای کره پاستوریزه
T0= تیمار کره پاستوریزه فاقد امگا۳
T1= تیمار کره پاستوریزه دارای ٤۰۰ میلی‌گرم امگا۳
T2= تیمار کره پاستوریزه دارای ۵۰۰ میلی‌گرم امگا۳
T3= تیمار کره پاستوریزه دارای ٦۰۰ میلی‌گرم امگا۳
T4= تیمار کره پاستوریزه دارای ۷۰۰ میلی گرم امگا۳

ارزیابی حسی

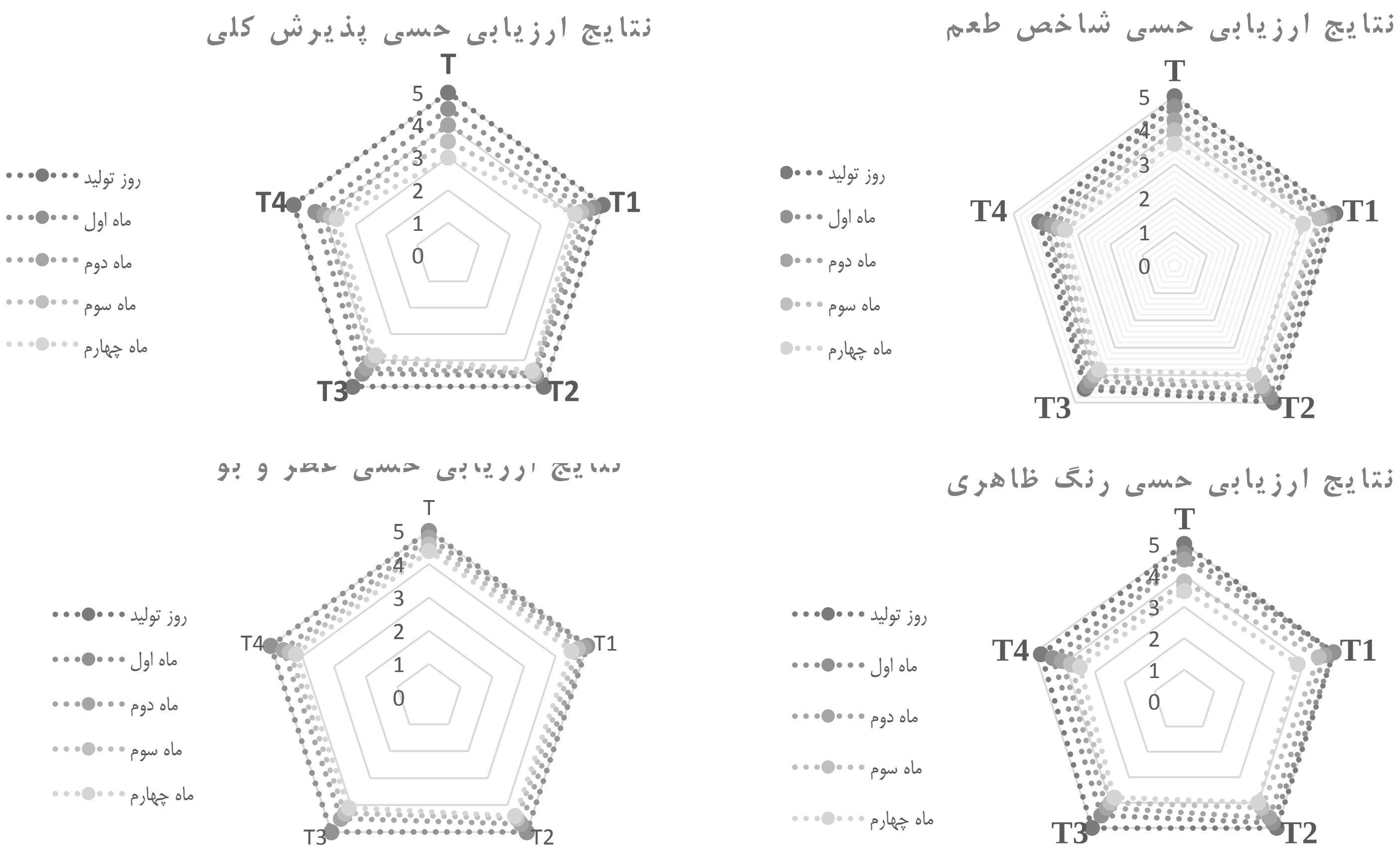
طعم

با توجه به شکل ۵ مشاهده می‌شود که ارزیاب‌ها اختلاف معنی‌داری را بین طعم تیمارهای کره پاستوریزه در روز تولید مشاهده نمودند و تیمارهای کره پاستوریزه T3 و T4 در روز تولید به‌طور معنی‌داری در مقایسه با سایر تیمارها و همچنین کره شاهد از مطلوبیت طعم کمتری برخوردار بودند ($p\leq ۰/۰۵$). تیمارهای T1 و T2 نسبت به کره شاهد از مطلوبیت حسی طعم بالاتری برخوردار بودند. نهایتاً ارزیاب‌ها تیمار کره پاستوریزه دارای ۴۰۰ میلی‌گرم امگا۳ را به‌عنوان تیمار برتر طی زمان نگهداری چهار ماه انتخاب نمودند و کره شاهد نیز در انتهای ماه چهارم نگهداری از کمترین میزان مطلوبیت حسی طعم برخوردار بود. بررسی نتایج ارزیابی حسی نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین میزان شاخص طعم تیمارهای کره در روز تولید وجود نداشت اما با افزایش مدت زمان نگهداری میزان شاخص طعم تیمارهای کره به‌طور معنی‌داری کاهش یافت که به دلیل افزایش میزان اتواکسیداسیون چربی، تغییرات عدد پراکسید و همچنین میزان اسیدیته می‌باشد. با توجه به کمتر بودن تغییرات اسیدیته در تیمارهای کره غنی شده با میکروامولسیون‌ها میزان امتیاز طعم کاهش معنی‌داری نداشت اما در کره شاهد میزان این تغییرات حداکثری بوده و میزان افت امتیاز طعم با سایر تیمارها طی چهارماه زمان نگهداری مشهود بود. همچنین به دلیل پوشش‌دهی امگا ۳ توسط میکروامولسیون‌ها امتیاز طعم با افت معنی‌داری مواجه نبوده تنها در دو نسبت ۶۰۰ و ۷۰۰ میلی‌گرم امگا۳ میزان امتیاز طعم به جهت افزایش میزان درصد آزادسازی کاهش نشان داد.

رنگ

با توجه به شکل ۵ مشاهده می‌شود که اختلاف معنی‌داری بین میزان امتیاز رنگ ظاهری تیمارهای کره پاستوریزه در روز تولید وجود نداشته و تنها تیمار کره پاستوریزه دارای ۷۰۰ میلی‌گرم امگا ۳ از نظر ارزیاب‌ها دارای اختلاف معنی‌داری تشخیص داده شد ($p\leq ۰/۰۵$). طی زمان نگهداری امتیاز رنگ ظاهری تیمارهای کره پاستوریزه با کاهش معنی‌داری مواجه شد به طوری که در انتهای ماه چهارم نگهداری امتیاز کره پاستوریزه شاهد به حداقل میزان رسید ($p\leq ۰/۰۵$). روند تغییرات کاهشی امتیاز رنگ ظاهری در کره شاهد با شدت بیشتری از تیمارهای کره پاستوریزه با مقادیر ۴۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم امگا۳ مشاهده شد

(p≤۰/۰۵). در انتهای ماه چهارم نگهداری تیمار T2 دارای بالاترین مطلوبیت رنگ ظاهری و کره شاهد و تیمار T4 دارای کمترین مطلوبیت رنگ ظاهری از نظر ارزیاب‌ها تشخیص داده شد (p≤۰/۰۵). رنگ ظاهری بین تیمارهای کره پاستوریزه در روز تولید اختلاف معنی‌داری نداشت به این جهت که میکروکپسول‌ها پوشش‌دهی امگا۳ را انجام داده اند اما طی دوره زمان نگهداری با افزایش میزان اتوکسیداسیون لیپیدی و همچنین اکسیداسیون بتاکاروتن موجود درکره با روز تولید اختلاف معنی‌داری را نشان داد. با توجه به کاهش میزان تغییرات در تیمار T2 نسبت به سایر تیمارها و همچنین بالاتر بودن میزان به دام‌اندازی امگا۳ در مقایسه با سایر تیمارها میزان کاهش مطلوبیت رنگ ظاهری در تیمارهای این کره کمتر به چشم خورد که به اثرات آلژینات سدیم نیز اشاره می‌کند.



شکل ۵- مقایسه خصوصیات حسی تیمارهای کره پاستوریزه طی ٤ ماه نگهداری

T0= تیمار کره پاستوریزه فاقد امگا۳
T1= تیمار کره پاستوریزه دارای ٤٠٠ میلی‌گرم امگا۳
T2= تیمار کره پاستوریزه دارای ۵٠٠ میلی‌گرم امگا۳
T3= تیمار کره پاستوریزه دارای ٦٠٠ میلی‌گرم امگا۳
T4= تیمار کره پاستوریزه دارای ۷٠٠ میلی گرم امگا۳

عطر و بو

با توجه به شکل ۵ مشاهده می‌شود که اختلاف معنی‌داری در میزان امتیاز عطر و بو تیمارهای کره پاستوریزه در روز تولید وجود داشت (p≤۰/۰۵). با افزایش مدت زمان نگهداری میزان امتیاز عطر و بو تیمارهای کره کاهش معنی‌داری نشان داد (p≤۰/۰۵). کمترین میزان امتیاز عطر و بو تیمارهای کره به کره شاهد در ماه چهارم نگهداری و بالاترین آن به تیمارهای دارای ۴۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم امگا ۳ تعلق داشته و تیمارهای کره پاستوریزه با مقادیر ۶۰۰ و ۷۰۰ میلی‌گرم امگا۳ در مراحل بعدی قرار داشتند. عطر و بو تیمارهای کره نیز به جهت ریزپوشانی شدن امگا۳ با میکروامولسیون‌ها در روز تولید با کره شاهد اختلاف معنی‌داری را نشان نداد اما طی دوره نگهداری کره به دلیل تغییرات اسیدیته و اکسیداسیون و افزایش اسید بوتیریک نیز با افت معنی‌داری در کره شاهد مواجه بود اما در تیمارهای کره دارای میکروامولسیون امگا۳ میزان افت امتیاز به مراتب کمتر بود. با این وجود اکسیداسیون امگا۳ در تیمارهای T3 و T4 باعث ایجاد ترکیبات و بوی نامطبوعی در کره پاستوریزه درطی نگهداری در تیمارهای کره پاستوریزه گردید. بنظر می رسد که ترکیبات امگا۳ با استفاده از افزایش ۱و ۲ سیکلولاسیون (مسیر اکسیداسیون شیمیایی اسید لینولئیک کونژوگه) منجر به تولید ترکیبات آلدئیدی، استری و لاکتون ها در کره طی دوره نگهداری گردیده است. Horn و همکاران (۲۰۱۲) دریافتند که کیفیت حسی پنیر خامه‌ای غنی شده با روغن ماهی طی نگهداری به طور قابل توجهی تحت تاثیر اکسیداسیون قرار گرفته و کاهش یافته است که با نتایج تحقیق حاضر نیز مطابقت داشت.

پذیرش کلی

با توجه به شکل ۵ مشاهده می‌شود که اختلاف معنی‌داری در میزان امتیاز پذیرش کلی تیمارهای کره پاستوریزه در روز تولید وجود داشت (p≤۰/۰۵). با افزایش مدت زمان نگهداری میزان امتیاز پذیرش کلی تیمارهای کره کاهش معنی‌داری نشان داد (p≤۰/۰۵). کمترین میزان امتیاز پذیرش کلی تیمارهای کره به کره شاهد در ماه چهارم نگهداری و بالاترین آن به تیمارهای دارای ۴۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم امگا۳ تعلق داشته و تیمارهای کره پاستوریزه با مقادیر ۶۰۰ و ۷۰۰ میلی‌گرم امگا۳ در مراحل بعدی قرار داشتند. شاخص‌پذیرش کلی به معنای میزان مقبولیت کلی تیمارها از نظر مجموعه‌ای از خصوصیات حسی طعم، رنگ، عطر و بو می‌باشد. در این تحقیق تیمار T2 به دلیل دارا بودن بالاترین میزان به دام‌اندازی و سایز میکروکپسول کمتر و بهترین پروفایل رهایش دارای خصوصیات حسی بهتری بوده و کره شاهد طی زمان نگهداری چهارماه به کمترین میزان مطلوبیت رسید. تیمارهای T3 و T4 هم اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نشان ندادند اما در انتهای ماه چهارم نگهداری امتیاز بالاتری از کره شاهد نشان دادند

نتیجه‌گیری

روغن ماهی عمده‌ترین منبع غذایی اسیدهای چرب غیراشباع با زنجیره طولانی است که اثرات سلامتی‌بخش بر بدن دارد. مطالعات نشان داده که مصرف محصولات غذایی غنی شده با روغن ماهی، مزایای بالقوه‌ای برای سلامتی، به‌ویژه محافظت دربرابر بیماری‌های قلبی، سرطان و بهبود کارایی مغز دارد. در این تحقیق میکروامولسیون‌های امگا۳ در غنی‌سازی کره اسپرید نیم‌چرب مورد استفاده قرار گرفتند. بر اساس نتایج تحقیق حاضر اندازه ذرات میکروامولسیون بین ۹۵ تا ۱۱۹ نانومتر بود. میزان به دام‌اندازی امگا۳ بین ۶۵ تا ۷۹ درصد بود. نتایج نشان داد که شاخص پراکسید، اسیدیته و شاخص‌های حسی تیمارهای کره طی زمان نگهداری افزایش معنی‌داری تا انتهای ماه چهارم نگهداری نشان داد. کمترین میزان تغییرات شاخص‌های حسی و فیزیکوشیمیایی در مورد تیمار کره دارای میکروامولسیون‌های با ۵۰۰ میلی گرم امگا ۳ مشاهده شد و بیشترین میزان تغییرات در کره پاستوریزه شاهد مشاهده شد. نهایتاً با توجه به نتایج ارزیابی شاخص‌های حسی و فیزیکوشیمیایی تیمار کره پاستوریزه نیم چرب اسپرید دارای ۵۰۰ میلی‌گرم امگا ۳ به‌عنوان تیمار برتر انتخاب و معرفی شد.

منابع

Ameli, M. & Nouri Golkhandan, V. (2011). Enrichment of cream cheese with omega-3 microencapsulation as a pragmatic food, the first national conference on food safety.

Anon. (2008). Measurement of peroxide in edible oils and fats. Iranian Institute of Standards and Industrial Research, No. 4179.

Anon. (2011). Measurement of acidity in edible fats and oils. Iranian Institute of Standards and Industrial Research, No. 4178.

Ariafar, M. & Zandi, P. (2007). Production of low cholesterol butter with application of beta-cyclodextrin. *Journal of Nutrition Sciences and Food Technology*, 2 (3): 23-32.

Bahramizadeh, I. & Rahmani Farah, K. (2019). The effects of different encapsulated omega-3 oil enrichment methods with Cinnamon and Rosemary extracts on fish burger quality and its shelf life. *Food Science and Technology*, 16(87): 87-102.

Calligaris, S., Plazzotta, S., Bot, F., Grasselli, S., Malchiodi, A., Anese, M. (2016). Nanoemulsion preparation by combining high pressure homogenization and high power ultrasound at low energy densities. *Food Reseach International*, 83: 25-30.

Chen, L. & Subirade, M. (2006). Alginate–whey protein granular microspheres as oral delivery vehicles for bioactive compounds. *Biomaterials*, 27(26): 4646–4654.

Doherty, S.B., Gee, V.L., Ross, R.P., Stanton, C., Fitzgerald, G.F. & Brodkorb, A. (2011). Development and characterisation of whey protein micro-beads as potential matrices for probiotic protection. *Food Hydrocolloids*, 25(6): 1604-1617.

Djordjevic, D., McClements, D. J. & Decker, E.A. (2006). Oxidative Stability of Whey Protein- stabilized Oil- in- water Emulsions at pH 3: Potential ω- 3 Fatty Acid Delivery Systems. *Journal of Food Science*, 69(5): 356-362.

Esfahani, R., Jafarpour, S. A., Jafari, S.M., (2018). Color, moisture and microstructure properties of omega-3 nanocapsules produced using coagulation technique. *Journal of Food Science and Technology*, 81(5):20-27.

Hamzeh, A. & Rezaei M. (2011). Antioxidant and antibacterial effects of sodium alginate coating enriched with thyme essential oil on rainbow trout fillet during refrigerated storage. Iranian Journal of Nutrition Sciences and Food Technology, 6(3): 11-20.

Horn, A.F., Green-Petersen, D., Nielsen, N.S., Andersen, U., Hyldig, G., Jensen, L.H.S., Horsewell, A. & Jacobsen, C. (2012). Addition of fish oil to cream cheese affects lipid oxidation, sensory stability. *Agriculture*, 2: 359-375.

Ilyasoglu, H. & Sedef Nehir, E. (2014). Nanoencapsulation of EPA/DHA with sodium caseinate–gum arabic complex and its usage in the enrichment of fruit juice. *LWT-Food Science and Technology*, 56(2): 461-468.

Jafarpour, S.A., Esfahani, R., Jafari, S.M., (2016). Efficiency evaluation of nanoencapsulation of omega-3 fatty acids with gelatin-Arabic gum complex using coaservation technique. *Iranian Scientific Fisheries Journal*, 25 (2): 29-42.

Keramat Jou, E., Hesari, J., Azadmard Damirchi, S., Peighambardoust, S.H., Nemati, M., (2013). Antioxidant effect of olive leaf extract on stability of butter. *Journal of Food Processing and Preservation*, 5(1): 81-94.

Kolanowski, W. & Weibbrodt, J. (2007). Sensory quality of dairy products fortified with fish oil. *International Dairy Journal*, 17(10): 1248-1253.

Luo, Y., Zhang, B., Whent, M., Yu, L. & Wang, Q. (2011). Preparation and characterization of zein/chitosan complex for encapsulation of α-tocopherol, and it’s in vitro controlled release study. Colloids and Surfaces B: *Biointerfaces*, 85(2):145-152.

Mi, F.A., Shyu, S.S., Lee, S.T. & Wong, T.B. (1999). Kinetic study of chitosan tripolyphosphate complex reaction and acid-resistive properties of the chitosan tripolyphosphate gel beads prepared by in liquid curing method. *Journal of Polymer Scienc*e, 37(14):1551–1564.

Nami E., Zakipour Rahimabadi, E. & Kanipour, A.A. (2016). Effect of antioxidant sodium alginate edible coatings containing vitamin C on rainbow trout fillets during refrigerated storage *Journal of Fisheries Science and Technology*, 5(3): 137-149.

Poncelet, D., Lencki, R., Beaulieu, C., Halle, J.P., Neufeld, R.J. & Fournier, A. (1992). Production of alginate beads by emulsification/internal gelation. *Applied Microbiology and Biotechnology*; 38:39–45.

Prathyusha Rao, M., Manjunath, K., Bhagawati, S.T. & Thippeswamy, B.S. (2014). Bixin loaded solid lipid nanoparticles for enhanced hepatoprotection--preparation, characterisation and in vivo evaluation. *International Journal of Pharmaceutics*, 473(1-2): 485-492.

Peniche, C., Howland, I., Carrillo, O., Zaldívar, C. & Argüelles-Monal, W. (2004). Formation and stability of shark liver oil loaded chitosan/calcium alginate capsules. *Food Hydrocolloids*, 18(5): 865-871.

Rastmanesh, R. (2008). Micronutrient fortification of foods. Agricultural Sciences Publication.

Rodriguez-Garcia, J., Laguna, L., Puig, A., Salvador, A. & Hernando, I. (2013). Effect of Fat Replacement by Inulin on Textural and Structural Properties of Short Dough Biscuits. *Food and Bioprocess Technology*: 6(10): 2739-2750.

Roller, S. & Jones, S.A. (1996). Handbook of Fat Replacers. CRC Press, P.1-62.

Subongkot, T. & Ngawhirunpat, T. (2017). Development of a novel microemulsion for oral absorption enhancement of all-trans retinoic acid. *International Journal of Nanomedicine*, 3(12):5585-5599.

Shahidi, F. (2005). Bailey’s Industrial Oil and Fat Products. Vol. 1, 4th edn. John Wiley & Sons, New York.

Taccone-Gallucci, M., Manca-di-Villahermosa, S., Battistini, L., Stuffler, R.G., Tedesco, M. & Maccarrone, M. (2006). N-3 PUFAs reduce oxidative stress in ESRD patients on maintenance HD by inhibiting 5-lipoxygenase activity. Kidney Int., 69(8):1450-1454.

Umesha, S.S., Manohar, R., Sai, A.R., Indiramma, S., Akshitha, K. & Akhilender, N. (2015). Enrichment of biscuits with microencapsulated omega-3 fatty acid (Alpha-linolenic acid) rich Garden cress (Lepidium sativum) seed oil: Physical, sensory and storage quality characteristics of biscuits. *LWT - Food Science and Technology*, 62(1):654-661.

Yousefi, H., Soleimanianzad, P. & Shahedi Bagh-e Khandan, M. (2017) Microcoating of probiotics by emulsion method in the production of probiotic bread. Iranian Journal of Nutrition Sciences and Food Technology, 11(4): 99-106.

Zimet, P. & Livney, Y.D. (2009). Beta-lactoglobulin and its nanocomplexes with pectin as vehicles for omega 3 polyunsaturated fatty acids. *Food Hydrocolloids*; 23:1120–1126.

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 17, No. 5, Dec- Jan 2021, p. 905-918

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد ۱۷، شماره ۵، آذر- دی ۱۴۰۰، ص.۹۱۸ -۹۰۵

Preparation and formulation of functional half-Fat spread butter with micro-emulsions containing omega-3

Sh. Mirehsanpazir[1], M. Gharachorloo[2*], Gh. Asadi[3]

Received: 2020.08.13
Accepted: 2020.10.15

Introduction: Today, in developed countries, where there is a deep dependence on processed foods, food fortification has played a major role in the health of these communities over the past 40 years and has led to the eradication of malnutrition in these countries. Omega-3 is a type of unsaturated fatty acid that is composed of a carboxyl group (COOH) and a carbon chain with several double bonds. Clinical trials have shown that omega-3 deficiency can increase the risk of diseases such as mood problems and anxiety, psychosis, attention deficit disorders, obsessive-compulsive disorder, personality disorders, depression, dementia and autism. In fact fatty acids have a protective effect against psychiatric disorders, especially in people at high risk. The use of fatty acid compounds directly in food enrichment causes problems such as autoxidation, malnutrition, reduced bioavailability as well as instability against light and heat, which has led to the use of various techniques to encapsulate. Microencapsulation is the process of employing a carrier for sensitive microorganisms and compounds with high instability as well as high cost to protect the external environment, thus reducing cell damage. Natural polymers are based on available materials for their biodegradability, food compatibility and viability of controlled transmission systems. The structure of emulsions consists of scattered droplets of one liquid (suspended phase or internal phase) in another liquid (continuous phase or external phase). Emulsions with a particle diameter of nanometers and, according to most authors, a maximum of 500 nanometers are called microemulsions. There are different techniques for producing microemulsions, each of which produces microemulsions with different properties, and each has advantages and disadvantages. In this study, semi-fat spread butter was prepared with omega-3 microemulsion.

Materials and Methods: The aim of this study was fortification of half-fat spread butter with microemulsion containing omega-3 based on emulsification/ gelation microemulsification method. Microemulsions were prepared according to the method of (Chen and Subirade, 2006) with some modifications. From each of the microemulsions containing omega 3 with concentrations of 400, 500, 600 and 700 mg of omega 3, 10 mg per 100 g of butter sample was added and rubbed until a homogeneous mixture was obtained and stirred thoroughly. After that, the product was packaged at a maximum temperature of 16 ° C and transferred to a refrigerator below zero (-18) ° C, and then evaluated at the time production day and the first, second, third and fourth months. Evaluation of size, polydispersity index of microemulsions morphological characteristics, omega-3 trapping rate in microemulsion and omega-3 release rate on the basis of the method (Chen and Subirade, 2006) was done. The amount of peroxide was measured idiometrically - the end point was determined visually according to National Standard No, 4179. Butter acidity was done by titration method according to National Standard No, 4178. Sensory characteristics such as taste, color, odor and general acceptance were assessed using 15 trained evaluators based on a 5-point hedonic test. Results were analyzed with analysis variance and ($\alpha = 0.05$) with software SPSS version 22. Results demonstrated that the average size of microemulsion was between 95 -119 nm. The loading efficacy of omega 3 was between 65-79%.

Results and Discussion: Fish oil is the main food source of long-chain unsaturated fatty acids that have healing effects on the body. Studies have shown that eating fish oil-fortified foods has potential health benefits, especially protection against heart disease, cancer and improved brain function. In this study, omega-3 microemulsions were used to enrich half-fat spread butter. According to the results of the present study, the particle size of the microemulsion was between 95 and 119 nanometers. The omega-3 trapping rate was between 65 and 79 percent. The results showed that peroxide, acidity and sensory indexes of butter treatments during storage showed a significant increase until the end of the fourth month of storage. The least amount of changes in sensory and physicochemical indices were observed in the treatment of butter with microemulsions with 500 mg omega 3 and the highest amount of changes was observed in the pasteurized

1. MSc Graduated, Department of Food Science and Technology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
2 Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
3 Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
(*Corresponding Author Email: Gharachorloo.m@gmail.com)

control butter. Finally, the treatment of pasteurized semi-fat spread butter with 500 mg of omega 3 was selected and introduced as the optimal treatment.

Keywords: pasteurized half-butter, whey protein/alginate microemulsion, omega 3, fortification